



Plant DNA Kit

植物 DNA 提取试剂盒

产品简介

GBCBIO公司的Plant DNA Kit该试剂盒采用简便的硅胶柱结合纯化方式和独特的溶液处理系统，可在60分钟内可处理多个100mg新鲜或30mg干燥植物组织样品。独特的缓冲液与硅胶柱可以有效地去除组织裂解物种的多糖，酚类，以及酶抑制物。该试剂盒提取到的DNA可以用于PCR，Southern杂交，酶切消化等实验。无需使用酚氯仿等有机，可以同时多个样品的处理。

试剂盒组成

产品编号	D4101	D4105	D4106	D4107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer C1	4ml	40ml	70ml	70ml*2
Buffer C2	1ml	12ml	20ml	40ml
Buffer C3	1ml	20ml	35ml	70ml
DNA Wash Buffer	2ml	13ml	26ml	26ml*2
RNase A	25 μ l	220 μ l	450 μ l	900 μ l
说明书	1	1	1	1

储存和稳定性

室温保存，24个月内有效。Buffer C2于Buffer C3可能有沉淀产生，37℃水浴溶解后即可。RNase A常温运输,-20℃保存。

实验前准备

请详细阅读该手册并熟悉各个步骤，在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：

D5101 加8 ml；D5105加入52 ml；D5106与D5107中每瓶加入104 ml 无水乙醇

标准操作步骤

1.样品的处理：

A. **新鲜样品**：新鲜样品可以用液氮研磨成粉末。或者在45℃烘箱下过夜来干燥后按干燥样品进行操作。

B. **干燥样品**：用研钵或研磨研杵研磨成粉末。

2. 小于100mg新鲜样品或者小于20mg干燥样品，加入600 μ l Buffer C1及4 μ l RNase A涡旋混匀。
3. 65℃水浴10分钟。孵育过程中短暂涡旋管子几次。
4. 加入150 μ l Buffer C2，颠倒振荡混匀，冰上放置1分钟后10,000 \times g下离心3min。（离心后应分层，如还有漂浮物，请延长离心时间）。
5. 小心地把上清液吸至另一新的小离心管中。注意确保不要打散沉淀团或把组织碎片也一起转移。
6. 加入二分之一上清体积的 Buffer C3与与等体积的无水乙醇，充分混匀。如：向300 μ l 上清中加入150 μ l Buffer C3与300 μ l无水乙醇。
7. 把上述混匀的液体转移到GBC分离柱上。10,000 \times g离心1 min以结合DNA，弃去滤出液体。纯化柱最大容量为750 μ l,如果混合液大于750 μ l,请分两次过柱。
8. 将GBC吸附柱重新套回收集管中，加入600 μ l DNA Wash Buffer（使用前须按要求用无水乙醇稀释）至柱子中，10,000 \times g离心1min,倒弃流出液；
- 9.再加入600 μ l DNA Wash Buffer至柱子中，8,000 \times g离心1min,弃去流出液；
10. 将GBC吸附柱重新套回2ml收集管中，最大转速(>13,000xg)离心空结合柱1min以干燥柱子的基质；这一步对下面的洗脱步骤至关重要。
12. 将柱子置于1.5ml灭菌离心管，加入50-150 μ l 65℃预热的TE缓冲液至柱子的膜中央。室温静置5min；
13. 室温下，离心(>13,000)1min，以洗脱DNA。保留含DNA的流出液。将DNA储于-20℃。

对低DNA含量的样品按如下操作：

1. 收集研磨成粉末的植物组织，新鲜组织约400mg（干燥组织约200mg），置样品于15ml离心管中。
2. 加入9ml Buffer C1，剧烈地漩涡振荡。
3. 65℃水浴30-60min。水浴期间颠倒样品数次。
4. 加入2.5ml Buffer C2，充分混匀，3000 \times g离心10分钟。转移上清到新的15ml离心管中，加入0.7倍的异丙醇，3000 \times g离心10分钟。
5. 倒掉上清，加入300 μ l的灭菌去离子水与5 μ l RNase。65℃水浴溶解DNA。
6. DNA完全溶解后，加入150 μ l Buffer C3与300 μ l无水乙醇。
7. 按标准操作步骤的第七步，继续往下操作。

可能出现的问题与对策

问题	可能原因	建议
堵柱子	转移裂解上清时，转移了沉淀	按说明书操作，氯仿分离后，确保不转移到沉淀
	样品太粘稠	样品量别超过说明书上所说的，或者增加 Buffer C1 的用量。
DNA 得率低	样品的破壁方式不对	不论新鲜还是干燥样品，在加入 Buffer C1 之前必须用适当方式的研磨成粉末。
	样品的裂解效果不好	减少样品量，或者增加 Buffer C1 的用量。
	DNA 残留在柱子上	增加洗脱液的用量，并在离心洗脱前 65℃ 孵育 5min。
	DNA 洗涤不当	DNA Wash Buffer 按说明书用无水乙醇稀释。
下游应用不好	提取的 DNA 中含高盐	DNA Wash Buffer 如果必须按要求用无水乙醇稀释，必须室温放置。
	提取的 DNA 中含乙醇	洗脱前，必须最高转速空甩柱子 1min。

可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C3105	MiniElute Gel Extraction Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
1758-0300	X-gal	1g
1758-1700	IPTG	10g
G3408	EB 替代物	1ml
T2876	TAE (50X)	500ml
T2866	TBE (5X)	500ml
D2313	dNTP	0.5ml
E174	DEPC	110ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G1005	TMB 染色剂 (AB 液)	10ml*2
G3422	DAB 染色液	1ml (20 X)
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2

广州捷倍斯生物科技有限公司

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn